

103. Über Pterinchemie

81. Mitteilung¹⁾

Die Konfiguration an C(6) von natürlichem 5,6,7,8-Tetrahydro-L-biopterin und seinem Pentaacetylderivat

von Roland Prewo, Jost H. Bieri, Subhendu Narayan Ganguly²⁾ und Max Viscontini

Organisch-chemisches Institut der Universität, Winterthurerstrasse 190, CH-8057 Zürich

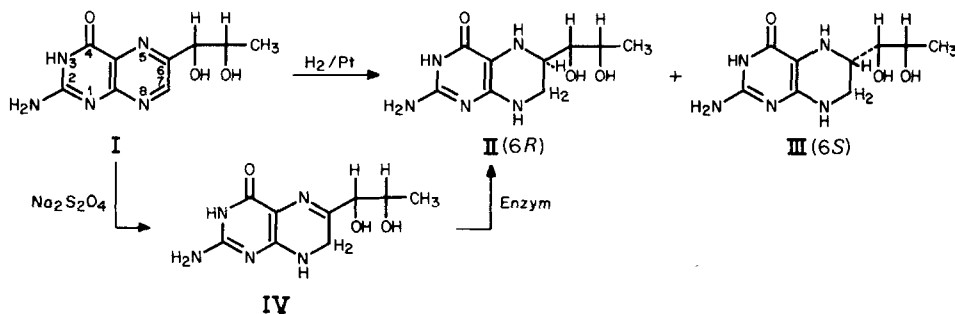
(11. II. 82)

The Configuration at C(6) of Natural 5,6,7,8-Tetrahydro-L-biopterin and of its Pentaacetate

Summary

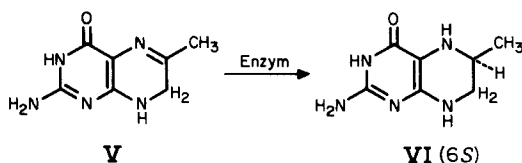
The structure of (6*R*)-pentaacetyl-5,6,7,8-tetrahydro-L-biopterin, one of two diastereoisomers obtained by catalytic hydrogenation and subsequent acetylation of L-biopterin, has been determined by X-ray diffraction analysis. The space group is $P2_12_12_1$, $a = 8,053(1)$, $b = 14,955(3)$, $c = 21,502(4)$ Å. The asymmetric unit contains one molecule of the biopterin derivative and one of ethyl acetate. The *R*-configuration can be assigned to C(6) by reference to the known configurations of the other asymmetric C-atoms. As hydrolysis of this diastereoisomer yields the natural 5,6,7,8-tetrahydro-L-biopterin, the latter also possesses the (6*R*)-configuration.

Wie wir 1977 berichteten, führt die katalytische Hydrierung von L-Biopterin (**I**) zu einer Mischung von zwei Diastereomeren **II** und **III**, die etwa im Verhältnis 2 : 1 anfallen [2]. Kurz darauf zeigten *Bailey & Ayling*, dass das bei der katalytischen Hydrierung von L-Biopterin in grösserer Menge gebildete Diastereomer mit dem

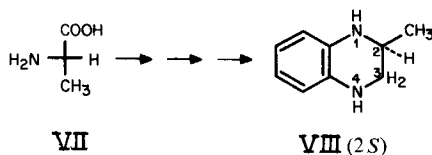


¹⁾ 80. Mitt. siehe [1].

²⁾ Neue Adresse: Bose Institute, 93/1, A.P.C. Road, Calcutta-700009, Indien.

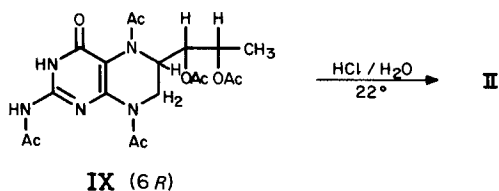


durch enzymatische Reduktion von 7,8-Dihydro-L-biopterin (**IV**) entstehenden natürlichen Tetrahydro-L-biopterin identisch ist [3]. Anschliessend vertraten *Matsuura et al.* die Ansicht, dass das natürliche Tetrahydro-L-biopterin die (6*R*)-Konfiguration **II** besässe. Die japanischen Autoren fanden eine Ähnlichkeit zwischen den CD.-Kurven des durch enzymatische, stereospezifische Reduktion von 7,8-Dihydro-6-methylpterin (**V**) erhaltenen 6-Methyl-5,6,7,8-tetrahydropterins (**VI**) einerseits, und jenen des aus L-Alanin (**VII**) synthetisch gewonnenen (2*S*)-2-Methyl-1,2,3,4-tetrahydrochinoxalins (**VIII**) andererseits. Folglich nahmen



sie für das enzymatisch reduzierte Pterin **VI** die (6*S*)-Konfiguration an. Da auch die CD.-Kurven von **VI** und von natürlichem Tetrahydro-L-biopterin ähnlich sind, wiesen die Autoren dem letzteren Produkt die gleiche Konfiguration an C(6) und damit die Struktur **II** zu [4].

Inzwischen haben wir die Diastereomerenmischung von (6*RS*)-5,6,7,8-Tetrahydro-L-biopterin (**II** + **III**) acetyliert und eines der beiden diastereomeren Pentaacetyl-5,6,7,8-tetrahydro-L-biopterine in kristalliner Form rein gewonnen [1]. In der vorliegenden Arbeit zeigen wir durch eine Kristallstrukturanalyse dieses Diastereomeren, dass es die (6*R*)-Konfiguration und folglich die Struktur **IX** besitzt. Da die salzsaure Hydrolyse von **IX** zu jenem diastereomeren 5,6,7,8-



Tetrahydro-L-biopterin führt [1], das bei der Pt-katalysierten Hydrierung von L-Biopterin in der grösseren Menge anfällt und somit nach [3] mit dem natürlichen Tetrahydrobiopterin identisch ist, kommt letzterem die Struktur des (6*R*)-Diastereomeren **II** zu.

Kristallographischer Teil³⁾. – Durch langsames Eindunsten einer Lösung des in [1] beschriebenen einen diastereomeren Pentaacetyltetrahydrobiopterins in Essigester bei etwa 4° erhielten wir farblose

³⁾ Anfragen hierzu bitte an J. H. B.

Tabelle 1. Daten zur Röntgenstrukturanalyse

Kristallgrösse (ca.)	0,5 × 0,3 × 0,1 mm ³
Kristalltemperatur (ca.)	– 140°
Raumgruppe	<i>P</i> 2 ₁ 2 ₁ 2 ₁
Summenformel der asymmetrischen Einheit	C ₁₉ H ₂₅ N ₅ O ₈ · C ₄ H ₈ O ₂
Gitterkonstanten (in Å) ^{a)}	
<i>a</i>	8,053(1)
<i>b</i>	14,955(3)
<i>c</i>	21,502(4)
Röntgenstrahlung (Graphitmonochromator)	MoK α
2 θ (max)	60°
Zahl der symmetrieunabhängigen Reflexe	4240
Registriermodus	ω -scan
Zahl der in der Verfeinerung verwendeten Reflexe	4240
<i>R</i>	0,093
<i>R_w</i> ^{b)}	0,075
Gewichtsschema <i>w</i>	($\sigma^2(F) + 0,0008 F^2$) ⁻¹

a) Die Standardabweichungen in Einheiten der letzten angegebenen Ziffer sind in Klammern angegeben. Zur Berechnung wurden die 2 θ -Werte von 96 automatisch zentrierten Reflexen einer Hemisphäre (35° < 2 θ < 39°) herangezogen ($\lambda = 0,71069$ Å).

$$b) R_w = \sqrt{\frac{\sum w(|F_o| - |F_c|)^2}{\sum w F_o^2}}$$

Kristalle, von denen wir einen geeigneten auswählten und zur Bestimmung der Gitterkonstanten, der Raumgruppe und zur Intensitätssammlung in einer Glaskapillare auf einem Nicolet-R3-Vierkreisdiffraktometer mit Tieftemperaturzusatz LT-1 montierten. Kristalldaten und andere allgemeine Angaben sind in *Tabelle 1* wiedergegeben.

Die Intensitäten wurden den üblichen Korrekturen (ohne Absorptionskorrektur) unterzogen und die Struktur mit direkten Methoden gelöst. Hierzu und zur Verfeinerung verwendeten wir das Programmsystem SHELXTL [5]. Wie sich dabei herausstellte, enthält die asymmetrische Einheit der Elementarzelle neben 1 Molekel Pentaacetyltetrahydrobiopterin auch 1 Molekel Essigsäureäthylester. Die H-Atome des Pentaacetyltetrahydrobiopterins und, allerdings weniger gut, die des Solvens konnten wir durch Differenz-Fourier-Synthesen lokalisieren. Da letztere in den nächsten Verfeinerungszyklen grösstenteils nicht zu sinnvollen Koordinaten variierten, führten wir sie im folgenden als starre CH₂- bzw. CH₃-Gruppen mit. Für H(193), das sich zunächst ebenfalls zu unwahrscheinlichen Koordinaten verschob, hielten wir die aus einer Differenz-Fourier-Rechnung gewonnenen Ortskoordinaten fest. Die übrigen H-Atome wurden isotrop, die C-, N- und O-Atome anisotrop verfeinert. Die letzte kleinste-Quadrate-Rechnung wurde unter Einschluss aller Reflexe mit geblockter Matrix (ca. 100 Parameter pro Block) bis zur vollständigen Konvergenz geführt. Jene Reflexe, deren Intensität *I* kleiner als 0,5 $\sigma(I)$ war, wurden dazu auf $I = 0,25 \sigma(I)$ gesetzt. Da unsere Röntgenstrukturanalyse keine Unterscheidung zwischen den beiden Enantiomeren erlaubt, wählten wir jenes aus, dessen Atome C(13) und C(14) gleich konfiguriert sind wie C(1') und C(2') in natürlichem L-Biopterin und Tetrahydro-L-biopterin. Abgesehen von den H-Atomen um C(19) waren die übrigen H-Atome des Pentaacetyltetrahydrobiopterins für eine Röntgenstrukturanalyse einigermaßen zufriedenstellend verfeinert. Zwei H-Atome waren 0,70 bzw. 0,75 Å von ihren C-Atomen entfernt. Die übrigen C,H-Bindungen betrugen 0,80 bis 1,04 Å. Ihr Mittel lag bei 0,90 Å. Die C,C,H-Bindungswinkel schwankten zwischen 95 und 122°.

Die Koordinaten der Atome sind in *Tabelle 2* aufgelistet. Eine stereoskopische Darstellung des Pentaacetyltetrahydro-L-biopterins (IX) findet man in *Figur 1*. Aus ihr wird deutlich, dass das Atom C(6) *R*-konfiguriert ist. Ausserdem sieht man, dass die Seitenkette pseudoaxial zum Tetrahydro-pyrazinring steht. Dieser Befund steht im Einklang mit den Ergebnissen früherer Konformationsanalysen, die wir teils ¹H-NMR-spektroskopisch [6], teils mit Röntgenbeugung durchgeführt haben [7]. In *Figur 2* ist eine Schemazeichnung von IX mit dem verwendeten Numerierungsschema, den Bindungslängen und Bindungswinkeln dargestellt. Deutlich ist die Aufweitung der Winkel O(4)–C(4)–C(4a) und C(4a)–N(5)–C(11) zu erkennen, verursacht durch die Wechselwirkungen von O(4) mit C(11) und C(12). Ebenso gross ist die Aufweitung des Winkels C(8a)–N(8)–C(20), hier durch die gegenseitige

Behinderung von N(1) mit der Methylgruppe an C(21) hervorgerufen. Während die Acetylgruppe an N(5) deutlich nach hinten abgelenkt ist (s. Fig. 1), liegt jene an N(8) weitgehend in der Pteridinebene, was die Aufweitung des Winkels N(8)–C(20)–C(21) erklärt. Möglicherweise ist hierauf auch der

Tabelle 2. Atomkoordinaten und Temperaturfaktoren von IX

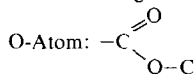
Atom	x/a	y/b	z/c	U ₀₁	U ₁₁	U ₂₂	U ₃₃	U ₂₃	U ₁₃	U ₁₂
N(1)	0.3575(4)	0.4507(2)	0.1626(1)	0.025(1)	0.020(1)	0.015(1)	-0.003(1)	0.002(1)	-0.003(1)	
C(2)	0.2320(4)	0.4388(2)	0.1996(1)	0.020(2)	0.015(1)	0.016(1)	-0.004(1)	-0.003(1)	-0.001(1)	
N(2)	0.0966(3)	0.4941(2)	0.1920(1)	0.019(1)	0.022(1)	0.017(1)	0.001(1)	0.001(1)	0.000(1)	
H(2)	0.110(4)	0.533(2)	0.163(1)	0.012(8)						
N(3)	0.2242(3)	0.3740(2)	0.2438(1)	0.015(1)	0.021(1)	0.017(1)	0.000(1)	0.005(1)	-0.000(1)	
H(3)	0.129(4)	0.373(2)	0.263(1)	0.007(7)						
C(4)	0.3552(4)	0.3153(2)	0.2555(1)	0.018(1)	0.019(1)	0.016(1)	-0.006(1)	-0.000(1)	0.001(1)	
O(4)	0.3397(3)	0.2557(2)	0.2939(1)	0.028(1)	0.02(1)	0.020(1)	0.006(1)	0.003(1)	0.003(1)	
C(4a)	0.5012(4)	0.3360(2)	0.2189(1)	0.017(1)	0.013(1)	0.013(1)	-0.004(1)	-0.002(1)	-0.000(1)	
N(5)	0.6397(4)	0.2761(2)	0.2219(1)	0.018(1)	0.027(1)	0.014(1)	-0.005(1)	0.000(1)	0.002(1)	
C(6)	0.6987(4)	0.2509(2)	0.1594(1)	0.015(1)	0.025(2)	0.014(1)	-0.005(1)	0.002(1)	0.004(1)	
H(6)	0.780(4)	0.209(2)	0.160(1)	0.012(8)						
C(7)	0.7525(4)	0.3352(2)	0.1264(2)	0.017(1)	0.026(2)	0.022(1)	-0.007(1)	0.005(1)	-0.001(2)	
H(71)	0.770(4)	0.323(2)	0.084(1)	0.018(9)						
H(72)	0.858(5)	0.355(2)	0.142(1)	0.022(9)						
N(8)	0.6235(3)	0.4062(2)	0.1295(1)	0.015(1)	0.025(1)	0.016(1)	-0.002(1)	0.000(1)	-0.002(1)	
C(8a)	0.4933(4)	0.3977(2)	0.1718(1)	0.013(1)	0.018(1)	0.014(1)	-0.003(1)	0.000(1)	-0.003(1)	
C(9)	-0.0422(4)	0.4987(2)	0.2296(2)	0.020(2)	0.022(2)	0.023(2)	-0.005(1)	-0.000(1)	-0.001(1)	
O(9)	-0.0651(3)	0.4463(2)	0.2718(1)	0.028(1)	0.032(1)	0.036(1)	0.008(1)	0.012(1)	0.009(1)	
C(10)	-0.1577(4)	0.5733(2)	0.2145(2)	0.019(2)	0.032(2)	0.028(2)	-0.004(2)	0.002(1)	0.003(2)	
H(101)	-0.162(4)	0.587(2)	0.176(1)	0.014(8)						
H(102)	-0.128(4)	0.623(2)	0.241(1)	0.015(8)						
H(103)	-0.268(4)	0.560(2)	0.233(2)	0.023(9)						
C(11)	0.7319(4)	0.2569(3)	0.2738(2)	0.021(2)	0.045(2)	0.020(2)	-0.002(2)	-0.001(1)	0.002(2)	
O(11)	0.8495(4)	0.2047(2)	0.2705(1)	0.042(2)	0.081(2)	0.023(1)	-0.006(1)	-0.009(1)	0.032(2)	
C(12)	0.6850(6)	0.3015(4)	0.3334(2)	0.029(2)	0.053(3)	0.016(2)	-0.003(2)	-0.005(2)	0.004(2)	
H(121)	0.760(6)	0.293(3)	0.355(2)	0.046(14)						
H(122)	0.602(6)	0.281(3)	0.362(2)	0.043(12)						
H(123)	0.666(7)	0.351(3)	0.332(2)	0.044(15)						
C(13)	0.5634(4)	0.2007(2)	0.1240(1)	0.018(1)	0.020(1)	0.014(1)	-0.001(1)	0.000(1)	0.005(1)	
H(13)	0.484(4)	0.239(2)	0.116(2)	0.016(8)						
O(13)	0.6422(3)	0.1608(2)	0.0700(1)	0.020(1)	0.026(1)	0.013(1)	-0.001(1)	0.001(1)	0.006(1)	
C(14)	0.4806(4)	0.1602(2)	0.1619(2)	0.024(2)	0.028(2)	0.014(1)	0.001(1)	0.001(1)	0.000(2)	
H(14)	0.424(5)	0.151(3)	0.190(2)	0.033(11)						
O(14)	0.3492(3)	0.0862(2)	0.1246(1)	0.020(1)	0.022(1)	0.023(1)	-0.002(1)	-0.001(1)	-0.001(1)	
C(15)	0.5948(5)	0.0515(2)	0.1809(2)	0.037(2)	0.020(2)	0.026(2)	0.004(1)	-0.001(2)	0.002(2)	
H(151)	0.643(5)	0.024(2)	0.143(1)	0.024(10)						
H(152)	0.689(5)	0.072(3)	0.209(2)	0.038(11)						
H(153)	0.557(6)	0.005(3)	0.202(2)	0.053(14)						
C(16)	0.5770(4)	0.1814(2)	0.0137(1)	0.026(2)	0.027(2)	0.015(1)	-0.003(1)	-0.004(1)	0.002(2)	
O(16)	0.4621(4)	0.2310(2)	0.0069(1)	0.063(2)	0.066(2)	0.018(1)	-0.007(1)	-0.009(1)	0.039(2)	
C(17)	0.6646(5)	0.1321(2)	-0.0375(1)	0.028(2)	0.031(2)	0.018(1)	-0.005(1)	0.001(1)	0.001(2)	
H(171)	0.617(5)	0.072(3)	-0.041(2)	0.039(11)						
H(172)	0.772(6)	0.116(3)	-0.027(2)	0.054(13)						
H(173)	0.668(5)	0.169(2)	-0.071(2)	0.029(10)						
C(18)	0.2026(4)	0.1303(2)	0.1227(2)	0.022(2)	0.031(2)	0.017(1)	0.003(1)	0.001(1)	-0.003(2)	
C(18)	0.1602(3)	0.2013(2)	0.1481(1)	0.027(1)	0.034(1)	0.026(1)	-0.002(1)	0.001(1)	0.004(1)	
C(19)	0.0784(5)	0.0815(3)	0.0847(2)	0.036(2)	0.048(2)	0.041(2)	-0.007(2)	-0.008(2)	-0.007(2)	
H(191)	0.050(6)	0.033(3)	0.111(2)	0.071(16)						
H(192)	0.051(9)	0.120(4)	0.074(3)	0.125(23)						
H(193)	0.120	0.043	0.051	0.100						
C(20)	0.6515(4)	0.4799(2)	0.0896(2)	0.026(2)	0.029(2)	0.020(1)	0.003(1)	-0.001(1)	-0.007(2)	
O(20)	0.7735(4)	0.4759(2)	0.0564(1)	0.033(1)	0.045(2)	0.033(1)	0.006(1)	0.015(1)	-0.009(1)	
C(21)	0.5426(5)	0.5607(3)	0.0897(2)	0.032(2)	0.040(2)	0.037(2)	0.024(2)	0.004(2)	-0.005(2)	
H(211)	0.423(5)	0.550(2)	0.074(2)	0.031(10)						
H(212)	0.524(5)	0.581(3)	0.127(2)	0.038(11)						
H(213)	0.582(6)	0.591(3)	0.070(2)	0.063(17)						
C(1a)	0.0233(8)	0.5791(3)	-0.0338(2)	0.086(4)	0.053(3)	0.031(2)	-0.000(2)	0.006(3)	0.003(3)	
H(11a)	0.028	0.631	-0.063	0.121						
H(12a)	-0.070	0.539	-0.046	0.121						
H(13a)	0.130	0.545	-0.036	0.121						
O(1a)	0.0942(4)	0.6036(2)	0.0743(1)	0.050(2)	0.052(2)	0.031(1)	0.006(1)	-0.011(1)	0.003(2)	
C(2a)	0.0178(6)	0.6246(3)	0.0279(2)	0.048(3)	0.038(2)	0.039(2)	0.006(2)	0.006(2)	0.004(2)	
O(2a)	-0.0874(5)	0.6944(2)	0.0270(1)	0.078(3)	0.054(2)	0.040(2)	-0.007(2)	-0.006(2)	0.016(2)	
C(3a)	-0.1075(8)	0.7469(3)	0.0831(2)	0.074(4)	0.035(2)	0.049(2)	-0.003(2)	0.015(3)	-0.000(3)	
H(31a)	-0.226	0.744	0.098	0.079						
H(32a)	-0.056	0.741	0.123	0.079						
C(4a)	-0.0620(9)	0.8408(3)	0.0679(2)	0.091(4)	0.052(3)	0.051(3)	0.003(3)	-0.008(3)	-0.003(3)	
H(41a)	-0.070	0.881	0.105	0.126						
H(42a)	-0.159	0.851	0.040	0.126						
H(43a)	0.043	0.853	0.045	0.126						

Der Exponent des anisotropen Temperaturfaktors hat die Form:

$$-2\pi^2(h^2a^*U_{11} + k^2b^*U_{22} + \dots + 2hka^*b^*U_{12}).$$

Die Atome des Essigsäureäthylesters sind mit «s» gekennzeichnet.

vergleichsweise lange Bindungsabstand N(8)–C(20) zurückzuführen. Erwartungsgemäss ist der Bindungsabstand C=O in den beiden Estergruppierungen kürzer als in den vier Amidgruppen. Wie bei Estern allgemein gefunden wird, ist das C(1) der Alkoholkomponente cis-ständig zum Carbonyl-



Infolge des hohen Acetylierungsgrades hat IX nur zwei aktive H-Atome, die an

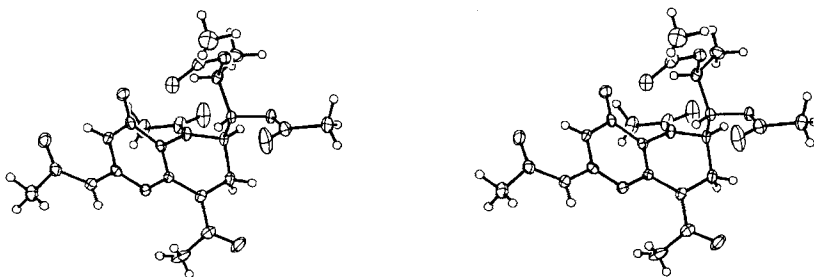


Fig. 1. Stereoskopische Darstellung des (6R)-Pentaacetyltetrahydro-L-biopterins (IX). Die H-Atome wurden mit willkürlichem Radius gezeichnet, die übrigen Atome sind durch ihre thermischen Ellipsoide mit 50% Aufenthaltswahrscheinlichkeit dargestellt.

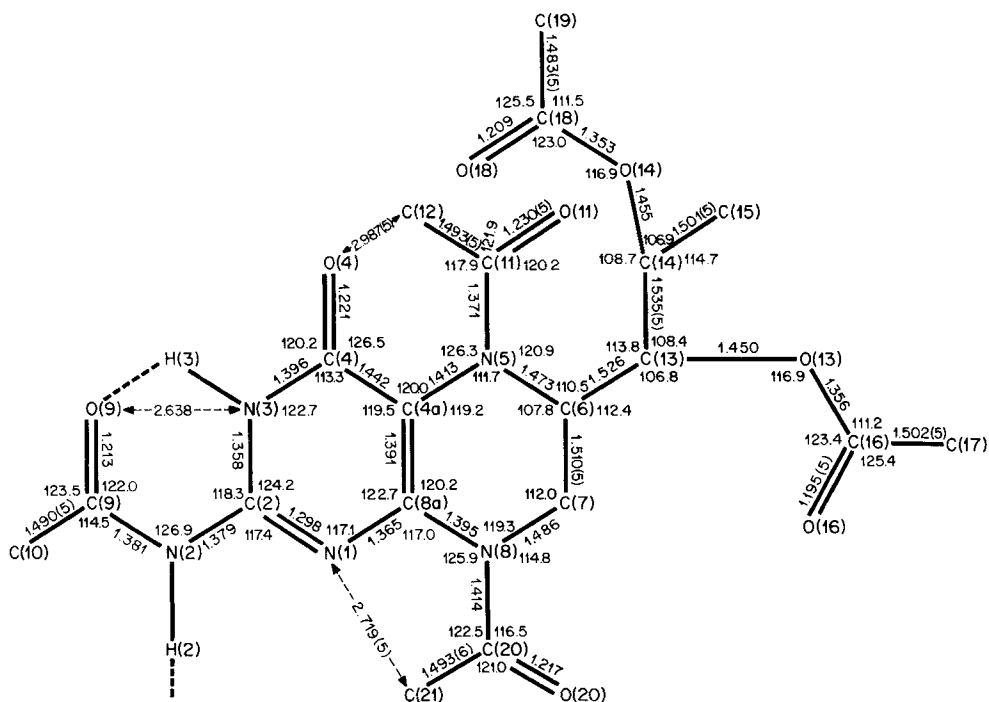


Fig. 2. Schemazeichnung von (6R)-Pentaacetyltetrahydro-L-biopterin (IX) mit Bindungslängen (in Å), Bindungswinkeln (in Grad) und der verwendeten Numerierung. Wo für die Bindungslängen keine Standardabweichungen angegeben werden, betragen sie 4 Einheiten der letzten Stelle. Bei den Bindungswinkeln betragen sie 0,3°, in 5 Fällen 0,2°. Die meisten H-Atome und die Solvensmolekel wurden weggelassen.

Tabelle 3. *Abweichungen einiger Atome (in Å) von der durch N(1), C(2), N(3), C(4), C(4a), N(5), N(8) und C(8a) gelegten Ebene kleinster Fehlerquadrate*

N(1)	0,010	O(4)	– 0,146	N(8)	– 0,062
C(2)	0,016	C(4a)	0,088	C(8a)	0,038
N(2)	0,013	N(5)	– 0,011	C(11)	0,807
N(3)	– 0,034	C(6)	– 0,943	C(20)	0,199
C(4)	– 0,043	C(7)	– 0,402		

N(2) und N(3) gebunden sind. Beide gehen eine H-Brücke ein, H(3) eine intramolekulare zu O(9), H(2) eine intermolekulare zum Carbonyl-O-Atom der Essigsäureäthylestermolekel.

Die Abstände der Pteridinatome und einiger nächster Nachbarn von der durch N(1), C(2), N(3), C(4), C(4a), N(5), N(8) und C(8a) gelegten Ebene kleinster Abstandsquadrate ist in *Tabelle 3* gezeigt. Neben den starken Abweichungen der beiden gesättigten C-Atome des Ringsystems zeigt sie deutlich jene, die durch die peri-Wechselwirkungen der Substituenten an C(4) und N(5) hervorgerufen werden.

Diese Arbeit wurde vom *Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung* unterstützt.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] S. N. Ganguly & M. Viscontini, *Helv. Chim. Acta* **65**, 1085 (1982).
- [2] B. Schircks, J. H. Bieri & M. Viscontini, *Helv. Chim. Acta* **60**, 211 (1977).
- [3] S. W. Bailey & J. E. Ayling, *J. Biol. Chem.* **253**, 1598 (1978).
- [4] S. Matsuura, T. Sugimoto, H. Hasegawa, S. Imaizumi & A. Ichiyama, *J. Biochem.* **87**, 951 (1980).
- [5] G. M. Sheldrick, SHELXTL, an integrated system for solving, refining and displaying crystal structures from diffraction data, revision 2.5, Universität Göttingen 1980.
- [6] R. Weber & M. Viscontini, *Helv. Chim. Acta* **60**, 161 (1977); A. N. Ganguly, J. H. Bieri & M. Viscontini, *ibid.* **64**, 367 (1981).
- [7] J. H. Bieri & M. Viscontini, *Helv. Chim. Acta* **60**, 447; 1926 (1977).